

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

ТИМОФЕЕНКО
Ксения Сергеевна

**ИНСЕРЦИЯ LIS-1 КАК МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МАРКЕР ПОТЕНЦИАЛЬНО
АДАПТИВНЫХ ГЕНОТИПОВ ЛЬНА (РОД *LINUM*)**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент В.А. Лемеш

Минск, 2014

Реферат

Дипломная работа содержит 62 страницы, 17 рисунков, 6 таблиц, 96 использованных источников.

Ключевые слова: лён (*Linum ussitatissimum*), адаптация, инсерция LIS-1, пластичность генома.

При адаптации к определенным стрессовым факторам окружающей среды в некоторых линиях льна-долгунца (генотрофы), а также сортах происходят наследуемые изменения генома, которые связаны с появлением вставки LIS-1. LIS-1 – это последовательность нуклеотидов размером 5,7 kb, которая встраивается в единичной копии в определенный сайт генома льна. Эта последовательность является одним из наиболее эффективных молекулярных маркеров для выявления форм льна-долгунца с высокой пластичностью генома и адаптационной способностью.

Цель данного исследования состояла в проведении ПЦР-анализа различных образцов льна для выявления форм с инсерцией LIS-1, ассоциированной с повышенной адаптационной способностью к абиотическим стрессам.

Объект исследования: 31 сорт льна-долгунца, 23 ландрасы, 3 диких вида льна, 4 линии растений «ложных трансформантов»

Для проведения скрининга ДНК выделялась как из индивидуальных растений, так и из общей выборки растений одного сорта. LIS-1 обнаруживали амплификацией с тремя парами праймеров, две из которых позволяли идентифицировать наличие инсерции, а одна служила для амплификации места встраивания. Электрофоретическое разделение проводили в 1,8% агарозном геле.

ПЦР-скрининг 31-го сорта льна-долгунца, 23-х ландрас и 3-х диких видов льна не обнаружил вставку LIS-1 ни в одном из исследованных генотипов. Однако присутствие в геноме исследованных образцов элементов LIS-1 исключать нельзя.

Впервые в результате наших исследований вставка LIS-1 обнаружена в ДНК двух линий «ложных трансформантов» (V-1, B-1), при этом она отсутствовала у исходных сортов, из которых данные линии были получены. Анализ двух поколений «ложных трансформантов» установил стабильное наследование вставки. Таким образом, «ложные трансформанты», выжившие под влиянием многих стрессовых факторов, обладают повышенной физиологической «подвижностью» и «пластичностью», расширяют спектр генетической изменчивости и могут быть полезны для создания форм с ценным сочетанием признаков.

Рэферат

Дыпломная праца ўтрымлівае 62 старонкі, 17 малюнкаў, 6 табліц, 96 выкарыстаных крыніц.

Ключавыя словы: лён (*Linum usitatissimum*), адаптацыя, інсерцыя LIS-1, пластычнасць геному.

Пры адаптацыі да пэўных стрэсавых фактараў навакольнага асяроддзя ў некаторых лініях лёну-даўгунцу (генотрофы), а таксама гатунках адбываюцца спадчыныя змены геному, якія звязаны са з'яўленнем ўстаўкі LIS-1. LIS-1 – гэта паслядоўнасць нуклеатыдаў памерам 5,7 kb, якая ўбудовваецца ў адзінкавай копіі ў пэўны сайт геному лёну. Гэтая паслядоўнасць з'яўляецца адным з найбольш эфектыўных малекулярных маркераў для выяўлення формаў лёну-даўгунцу з высокай пластычнасцю геному і адаптацыйнай здольнасцю.

Мэта дадзенага даследавання складалася ў правядзенні ПЦР-аналізу розных узораў лёну для выяўлення формаў з інсерцыяй LIS-1, асацыяванай з павышанай адаптацыйнай здольнасцю да абіятычнага стрэсу.

Аб'ект даследавання: 31 гатунак лёну-даўгунцу, 23 ландрасы, 3 дзікіх відаў лёну, 4 лініі раслін «несапраўдных трансфармантаў».

Для правядзення скрынінга ДНК вылучалася як з індывідуальных раслін, так і з агульнай выбаркі раслін аднаго сорта. LIS-1 выяўлялі ампліфікацыяй з трыма парамі праймераў, дзве з якіх дазвалялі ідэнтыфікаваць наяўнасць інсерцыі, а адна служыла для ампліфікацыі месца ўбудавання. Электрафарэтычнае раздзяленне праводзілі ў 1,8% агарозным геле.

ПЦР-скрынінг 31-го гатунку лёну-даўгунцу, 23-х ландрас і 3-х дзікіх відаў лёну не знайшоў устаўку LIS-1 ні ў адным з даследаваных генатыпаў. Аднак прысутнасць у геноме даследаваных узораў элементаў LIS-1 выключаць нельга.

Упершыню ў выніку нашых даследаванняў устаўка LIS-1 знойдзена ў ДНК двух ліній «несапраўдных трансфармантаў» (V-1, B-1), пры гэтым яна адсутнічала ў зыходных сартоў, з якіх дадзеныя лініі былі атрыманы. Аналіз двух пакаленняў «насапраўдных трансфармантаў» усталяваў стабільнае наслідаванне ўстаўкі. Такім чынам, «несапраўдныя трансфарманты», якія выжылі пад уплывам многіх стрэсавых фактараў, валодаюць павышанай фізіялагічнай «рухомасцю» і «пластычнасцю», пашыраюць спектр генетычнай зменлівасці і могуць быць карысныя для стварэння формаў з каштоўным спалучэннем прыкмет.

Summary

Graduate work contains 62 pages, 17 pictures, 6 tables, 96 sources.

Key words: flax (*Linum usitatissimum*), adaptation, insertion LIS-1, genomic plasticity.

Some varieties and lines of flax (genotrophs) undergo heritable genomic changes in response to certain environmental stresses, which include appearance of insertion LIS-1. LIS-1 is a 5.7 kb sequence that is inserted into a specific single copy target sequence in the genome. LIS-1 represents one of the most efficient molecular markers for finding the flax varieties with high genome plasticity and adaptation capacities.

The goal of this study was to conduct PCR screening of different samples of flax to identify forms with increased adaptive capacity to abiotic stresses.

Object of study: 31 flax varieties, 23 landrasses, 3 wild species and 4 lines of false transformants.

The genome DNA isolated from individual plants as well as from plants of the total sample was tested for the presence of insertion LIS-1 using PCR with three pairs of primers, two of which allowed to identify the presence of insertion, and one served to detect the absence of the insertion. Electrophoretic separation was conducted in 1,8% agarose gel.

PCR screening of 31 flax varieties, 23 landrasses, 3 wild species revealed the absence of insertion LIS-1 in all examined genotypes. However, the presence of LIS-1 elements in the genomes of investigated samples can not be excluded.

For the first time insertion LIS-1 was detected in the genome DNA of in two lines of false transformants (V-1, B-1), while it was absent in the initial varieties which gave rise to these lines. Analysis of two generations of the line showed the inheritance of LIS-1. Thus false transformants survivors influenced by many stress factors have increased physiological "mobility" and "flexibility", expand the range of genetic variation and can be used for creating forms with a valuable combination of characters.